

PCT/JP 03/13018  
/ 530789  
10.10.03

日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE

03 APR 2003

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

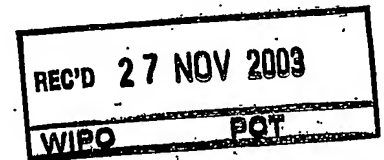
出 願 年 月 日                      2 0 0 3 年    8 月 1 8 日  
Date of Application:

出 願 番 号                      特 願 2 0 0 3 - 2 9 4 5 4 3  
Application Number:

[ST. 10/C]:                      [ J P 2 0 0 3 - 2 9 4 5 4 3 ]

出    願    人  
Applicant(s):

独立行政法人産業技術総合研究所  
東洋紡績株式会社  
甲南化工株式会社

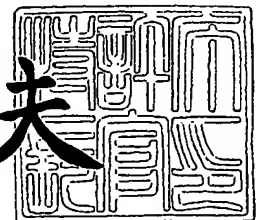


PRIORITY DOCUMENT  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH  
RULE 17.1(a) OR (b)

2 0 0 3 年 1 1 月 1 4 日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

今 井 康 夫



出証番号    出証特 2 0 0 3 - 3 0 9 4 2 1 8

【書類名】 特許願  
【整理番号】 3612003JP  
【提出日】 平成15年 8月18日  
【あて先】 特許庁長官殿  
【国際特許分類】 A61K 7/00  
【発明者】  
    【住所又は居所】 茨城県つくば市東 1 - 1 - 1 独立行政法人産業技術総合研究所  
                        つくばセンター内  
    【氏名】 常盤 豊  
【発明者】  
    【住所又は居所】 滋賀県大津市堅田 2 - 1 - 1 株式会社東洋紡総合研究所内  
    【氏名】 北川 優  
【発明者】  
    【住所又は居所】 茨城県つくば市東 1 - 1 - 1 独立行政法人産業技術総合研究所  
                        つくばセンター内  
    【氏名】 楽 隆生  
【発明者】  
    【住所又は居所】 大阪府高槻市中川町 5 - 2 1 甲南化工株式会社内  
    【氏名】 嶋川 博巳  
【特許出願人】  
    【識別番号】 301021533  
    【氏名又は名称】 独立行政法人産業技術総合研究所  
    【代表者】 吉川 弘之  
【特許出願人】  
    【識別番号】 000003160  
    【氏名又は名称】 東洋紡績株式会社  
【特許出願人】  
    【識別番号】 391045392  
    【氏名又は名称】 甲南化工株式会社  
【代理人】  
    【識別番号】 100065215  
    【弁理士】  
    【氏名又は名称】 三枝 英二  
    【電話番号】 06-6203-0941  
【選任した代理人】  
    【識別番号】 100076510  
    【弁理士】  
    【氏名又は名称】 掛樋 悠路  
【選任した代理人】  
    【識別番号】 100086427  
    【弁理士】  
    【氏名又は名称】 小原 健志  
【選任した代理人】  
    【識別番号】 100099988  
    【弁理士】  
    【氏名又は名称】 斎藤 健治  
【選任した代理人】  
    【識別番号】 100105821  
    【弁理士】  
    【氏名又は名称】 藤井 淳

## 【選任した代理人】

【識別番号】 100099911

【弁理士】

【氏名又は名称】 関 仁士

## 【選任した代理人】

【識別番号】 100108084

【弁理士】

【氏名又は名称】 中野 睦子

## 【手数料の表示】

【予納台帳番号】 001616

【納付金額】 10,500円

## 【その他】

国等以外のすべての者の持分の割合 5 0 / 1 0 0

## 【提出物件の目録】

【物件名】 特許請求の範囲 1

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9709328

【包括委任状番号】 0113737

**【書類名】 特許請求の範囲****【請求項 1】**

アスコルビン酸及び／又はアスコルビン酸誘導体を有効成分とするチロシナーゼ活性促進剤。

**【請求項 2】**

アスコルビン酸誘導体が、アスコルビン酸脂肪酸エステル、アスコルビン酸リン酸エステル又はその脂肪酸エステル又はそれらの塩、アスコルビン酸グルコシド又はその脂肪酸エステル、及びアスコルビン酸硫酸エステル又はその脂肪酸エステル又はそれらの塩からなる群から選ばれる少なくとも 1 種である請求項 1 に記載のチロシナーゼ活性促進剤。

**【請求項 3】**

請求項 1 又は 2 に記載のチロシナーゼ活性促進剤を含有する頭髮用組成物。

**【請求項 4】**

白髪防止用又は白髪改善用である請求項 3 に記載の頭髮用組成物。

**【請求項 5】**

請求項 1 又は 2 に記載のチロシナーゼ活性促進剤を含有する皮膚用組成物。

**【請求項 6】**

皮膚黒化用又は皮膚の抗白斑治療用である請求項 5 に記載の皮膚用組成物。

**【請求項 7】**

チロシナーゼ活性促進剤の含有量が組成物全体に対し 0. 0 0 0 0 1 ~ 1 0 重量%である請求項 3 ~ 6 のいずれかに記載の組成物。

**【請求項 8】**

チロシナーゼ活性促進剤がアスコルビン酸を有効成分とするチロシナーゼ活性促進剤であって、チロシナーゼ活性促進剤の含有量が組成物全体に対し 0. 0 0 0 1 ~ 1 重量%である請求項 3 ~ 6 のいずれかに記載の組成物。

**【請求項 9】**

チロシナーゼ活性促進剤がアスコルビン酸リン酸エステル及びアスコルビン酸グルコシドからなる群から選ばれる少なくとも 1 種を有効成分とするチロシナーゼ活性促進剤であって、チロシナーゼ活性促進剤の含有量が組成物全体に対し 0. 0 0 1 ~ 1 0 重量%である請求項 3 ~ 6 のいずれかに記載の組成物。

**【請求項 1 0】**

チロシナーゼ活性促進剤がアスコルビン酸の脂肪酸エステル、アスコルビン酸リン酸エステルの脂肪酸エステル及びアスコルビン酸グルコシドの脂肪酸エステルからなる群から選ばれる少なくとも 1 種を有効成分とするチロシナーゼ活性促進剤であって、チロシナーゼ活性促進剤の含有量が組成物全体に対し 0. 0 0 0 0 1 ~ 0. 1 重量%である請求項 3 ~ 6 のいずれかに記載の組成物。

【書類名】明細書

【発明の名称】チロシナーゼ活性促進剤及びこれを含有する組成物

【技術分野】

【0001】

本発明は、メラノサイト中のチロシナーゼを活性化することにより優れたメラニン産生促進効果を発揮し得るチロシナーゼ活性促進剤並びに該チロシナーゼ活性促進剤を含有する頭髮用又は皮膚用組成物に関する。本発明の頭髮用組成物は、白髪改善用や白髪防止用などに利用できる。また本発明の皮膚用組成物は、皮膚黒化用や皮膚の抗白斑治療用などに利用できる。

【背景技術】

【0002】

白髪は老化現象の一つであるが、多くのヒトは白髪にはなりたくなく、特に若年の白髪は嫌われている。そのため染色しているのが現状である。しかし、染料にかぶれたり、あるいは手間がかかるために、安全で簡便な白髪防止剤が求められている。白髪の発生メカニズムについては、メラニン色素が角化細胞に転送されなくなることにより生じることが知られている。このため、白髪防止剤の開発のために、チロシナーゼの活性促進成分やメラニン産生促進成分の検索が主になされており、天然物等の抽出液や各種物質の白髪防止作用を探索したりあるいは種々の化合物を有効成分として用いることなどが試みられている。

【0003】

例えば、メラニン生成促進剤として、 $\omega$ -アルコキシカルボニルアルキルアンモニウム及び／又はその塩、 $\omega$ -アルコキシカルボニルアルキルトリアルキルアンモニウム及び／又はその塩が有効であることが提案されている（特許文献1）。また、アデノシン誘導体（特許文献2）やジヒドロペオール誘導体（特許文献3）が提案されている。しかしながら、これらの化学物質は、安全性の点で不安がある。

【0004】

また、オウレンの水又はエタノール抽出物を有効成分とする白髪防止剤が提案されている（特許文献4）。また、コックル、ミドリガイ、カキ等の貝類のエッセンスからなるメラニン生成促進剤が提案されている（特許文献5）。また、スギナ、スイカズラ、ヒキオコシ、ブドウ、ヘチマ、セイヨウニワトコ、ブッチャーブルーム及びタイソウから選ばれる1種若しくは2種以上、又はその抽出物を有効成分とする白髪防止剤が提案されている（特許文献6）。また、シメジ科、ハリタケ科、サルノコシカケ科、カンゾウタケ科、キコブタケ科、ノボリリュウ科、モエギタケ科及びハラタケ科からなる群より選択される担子類の培養液又は菌体の抽出液群のメラニン生成促進成分の1種又は2種以上を配合した頭髮料が提案されている（特許文献7）。また、ピパーメチシクム及び／又は抽出物がメラニン産生促進効果を発揮することが提案されている（特許文献8）。更に、ウブゲグサ属、アミジグサから選択される1種又は2種以上の海藻の抽出物（特許文献9）、オタネニンジン、田七人參、タンジン、ユッカ、ビワ、キンギンカ、サルサから選ばれる1種又は2種以上の抽出物（特許文献10）、イチジク若しくはクワ又はそれらの抽出物（特許文献11）にもメラニン産生促進効果が確認されている。

【0005】

しかし、植物や動物成分の抽出物は、原料入手が困難であるため、その製造に制約があり、また原料の含有量も一定でなく、性能も不安定であった。

【0006】

一方、従来、アスコルビン酸はその抗酸化作用によりチロシナーゼを阻害する美白作用を有する物質として知られている。実際、美白剤としてもアスコルビン酸が使用されており、その安全性及び有効性が確認されている。しかし、アスコルビン酸のチロシナーゼ活性促進効果やメラニン産生促進効果については、従来、十分に明らかにされていなかった。

【0007】

また、アスコルビン酸エステルなどのアスコルビン酸誘導体は、食品添加物や化粧品素材として広く使用されており、その安全性は広く知られている。最近では、アスコルビン酸のリン酸エステルやグルコシド誘導体などの安定化されたアスコルビン酸誘導体が開発され使用されてきている。しかし、アスコルビン酸誘導体のチロシナーゼ活性促進効果又はメラニン産生促進効果についても、従来、明らかにされていなかった。

【特許文献1】特開平7-316048号公報

【特許文献2】特開平6-305940号公報

【特許文献3】特開2002-3381号公報

【特許文献4】特開平5-78222号公報

【特許文献5】特開平7-285874号公報

【特許文献6】特開平11-124318号公報

【特許文献7】特開平7-316026号公報

【特許文献8】特開平11-189541号公報

【特許文献9】特開平10-330218号公報

【特許文献10】特開2001-288098号公報

【特許文献11】特開2002-47130号公報

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0008】

本発明は、メラノサイトに働いて優れたメラニン産生効果を発揮することができる安全かつ安価なチロシナーゼ活性促進剤、並びに該チロシナーゼ活性促進剤からなる組成物、特に白髪改善及び白髪防止に顕著な効果を有する組成物を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0009】

本発明者は、上記目的を達成するため、チロシナーゼ活性促進作用を有する成分を求めべく鋭意検討を重ねた結果、アスコルビン酸及び／又はアスコルビン酸誘導体が、低濃度において、優れたチロシナーゼ活性促進効果を発現することを見だし、更に鋭意検討を重ねて、本発明を完成するに至った。

【0010】

即ち、本発明は次のチロシナーゼ活性促進剤及び組成物に係る。

【0011】

項1. アスコルビン酸及び／又はアスコルビン酸誘導体を有効成分とするチロシナーゼ活性促進剤。

【0012】

項2. アスコルビン酸誘導体が、アスコルビン酸脂肪酸エステル、アスコルビン酸リン酸エステル又はその脂肪酸エステル又はそれらの塩、アスコルビン酸グルコシド又はその脂肪酸エステル、及びアスコルビン酸硫酸エステル又はその脂肪酸エステル又はそれらの塩からなる群から選ばれる少なくとも1種である項1に記載のチロシナーゼ活性促進剤。

【0013】

項3. 項1又は2に記載のチロシナーゼ活性促進剤を含有する頭髮用組成物。

【0014】

項4. 白髪防止用又は白髪改善用である項3に記載の頭髮用組成物。

【0015】

項5. 項1又は2に記載のチロシナーゼ活性促進剤を含有する皮膚用組成物。

【0016】

項6. 皮膚黒化用又は皮膚の抗白斑治療用である項5に記載の皮膚用組成物。

【0017】

項7. チロシナーゼ活性促進剤の含有量が組成物全体に対し0.00001～10重量%である項3～6のいずれかに記載の組成物。

【0018】

項 8. チロシナーゼ活性促進剤がアスコルビン酸を有効成分とするチロシナーゼ活性促進剤であって、チロシナーゼ活性促進剤の含有量が組成物全体に対し 0.0001～1 重量%である項 3～6 のいずれかに記載の組成物。

【0019】

項 9. チロシナーゼ活性促進剤がアスコルビン酸リン酸エステル及びアスコルビン酸グルコシドからなる群から選ばれる少なくとも 1 種を有効成分とするチロシナーゼ活性促進剤であって、チロシナーゼ活性促進剤の含有量が組成物全体に対し 0.001～10 重量%である項 3～6 のいずれかに記載の組成物。

【0020】

項 10. チロシナーゼ活性促進剤がアスコルビン酸の脂肪酸エステル、アスコルビン酸リン酸エステルの脂肪酸エステル及びアスコルビン酸グルコシドの脂肪酸エステルからなる群から選ばれる少なくとも 1 種を有効成分とするチロシナーゼ活性促進剤であって、チロシナーゼ活性促進剤の含有量が組成物全体に対し 0.00001～0.1 重量%である項 3～6 のいずれかに記載の組成物。

【発明の効果】

【0021】

本発明によれば、安全性が高く、製造コストが安価なアスコルビン酸及び／又はアスコルビン酸誘導体を有効成分として、優れたチロシナーゼ活性促進作用又はメラニン産生促進作用を有するチロシナーゼ活性促進剤及び組成物が提供される。

【0022】

従来、アスコルビン酸又はアスコルビン酸誘導体は、メラニン生成抑制剤として用いられていたが、本発明により、アスコルビン酸及び／又はアスコルビン酸誘導体が、チロシナーゼ活性促進剤及びチロシナーゼ活性促進作用を奏する組成物の有効成分として用い得ることが明らかとなった。

【0023】

アスコルビン酸及び／又はアスコルビン酸誘導体からなる本発明のチロシナーゼ活性促進剤は、安全性が高く、安価で製造することができ、優れたチロシナーゼ活性化作用及びメラニン産生促進作用を奏するものである。また、該チロシナーゼ活性促進剤を含有する本発明の組成物も、優れたチロシナーゼ活性化作用及びメラニン産生促進作用を奏するものである。本発明の組成物は、例えば、白髪防止用、白髪改善用などの頭髮用組成物、また、皮膚黒化用、皮膚の抗白斑治療用などの皮膚用組成物として、有効に利用できる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0024】

以下、本発明について更に詳しく説明する。

【0025】

本発明のチロシナーゼ活性促進剤は、アスコルビン酸及び／又はアスコルビン酸誘導体を有効成分とする。

【0026】

アスコルビン酸は、水溶性の生体内抗酸化物質であり、ビタミン C と呼ばれ、生体内あるいは細胞内の様々な場所で様々な標的分子に対してその機能を発揮している。アスコルビン酸には、L-体、D-体があるが、本発明のアスコルビン酸としては、L-体が用いられる。

【0027】

アスコルビン酸誘導体としては、アスコルビン酸の 2、3、5 及び 6 位の少なくとも 1 つの水酸基に置換基を有するものであって、チロシナーゼ活性促進効果を有するものが用いられる。

【0028】

具体的に、アスコルビン酸誘導体としては、アスコルビン酸脂肪酸エステル、アスコルビン酸リン酸エステル又はその脂肪酸エステル又はそれらの塩、アスコルビン酸グルコシド又はその脂肪酸エステル、及びアスコルビン酸硫酸エステル又はその脂肪酸エステル又

はそれらの塩等が挙げられる。特に生体内に吸収された後、アスコルビン酸を生成するのが好ましい。

【0029】

本発明における脂肪酸、具体的にはアスコルビン酸脂肪酸エステル、アスコルビン酸リン酸エステルの脂肪酸エステル、アスコルビン酸グルコシドの脂肪酸エステル、及びアスコルビン酸硫酸エステルの脂肪酸エステルにおいて用いられる脂肪酸には、飽和又は不飽和の脂肪酸、また、直鎖状又は分枝状の脂肪酸が包含され、その種類は特に限定されない。脂肪酸の炭素数も特に限定されないが、通常炭素数1～24、好ましくは8～20、より好ましくは10～18のものが用いられる。

【0030】

アスコルビン酸脂肪酸エステルとしては、アスコルビン酸の2、3、5及び6位の少なくとも1つの水酸基と脂肪酸を反応させてエステル化した化合物が挙げられる。例えば、アスコルビン酸-6-パルミテート、アスコルビン酸-2, 6-パルミテート、アスコルビン酸-6-ステアレートなどが挙げられる。

【0031】

アスコルビン酸リン酸エステルとしては、例えば、アスコルビン酸の2位の水酸基にリン酸がエステル化したアスコルビン酸-2-リン酸エステルなどが挙げられる。

【0032】

アスコルビン酸リン酸エステルの塩としては、アスコルビン酸リン酸エステルの塩、具体的には、アルカリ金属塩、アルカリ土類金属塩などが挙げられる。より具体的には、アスコルビン酸-2-リン酸ナトリウム塩、アスコルビン酸-2-リン酸マグネシウム塩などが挙げられる。

【0033】

アスコルビン酸リン酸エステルの脂肪酸エステルとしては、アスコルビン酸リン酸エステルの水酸基に脂肪酸が更にエステル化した化合物、例えばアスコルビン酸-2-リン酸-6-パルミテート、アスコルビン酸-2-リン酸-6-ラウレート、アスコルビン酸-2-リン酸-6-ステアレートなどが挙げられる。

【0034】

また、アスコルビン酸リン酸エステルの脂肪酸エステルの塩としては、例えば、アスコルビン酸-2-リン酸-6-パルミテートナトリウム塩、アスコルビン酸-2-リン酸-6-ラウレートマグネシウム塩などが挙げられる。

【0035】

アスコルビン酸グルコシドとしては、例えば、アスコルビン酸の2位の水酸基にグルコースがグルコシド結合したアスコルビン酸-2-グルコシドなどが挙げられる。

【0036】

アスコルビン酸グルコシドの脂肪酸エステルとしては、アスコルビン酸グルコシドに脂肪酸が更にエステル化した化合物、例えばアスコルビン酸-2-グルコシド-6-パルミテート、アスコルビン酸-2-グルコシド-6-ステアレート、アスコルビン酸-2-グルコシド-6-ラウレートなどが挙げられる。

【0037】

アスコルビン酸硫酸エステルとしては、例えば、アスコルビン酸の2位の水酸基に硫酸がエステル化したアスコルビン酸-2-硫酸エステルなどが挙げられる。

【0038】

アスコルビン酸硫酸エステルの塩としては、アスコルビン酸硫酸エステルの塩、具体的には、アルカリ金属塩、アルカリ土類金属塩などが挙げられる。

【0039】

アスコルビン酸硫酸エステルの脂肪酸エステルとしては、アスコルビン酸硫酸エステルの水酸基に脂肪酸が更にエステル化した化合物、例えば、アスコルビン酸-2-硫酸-6-パルミテート、アスコルビン酸-2-硫酸-6-ステアレート、アスコルビン酸-2-硫酸-6-ラウレートなどが挙げられる。



**【0040】**

このうち、特にアスコルビン酸脂肪酸エステル、アスコルビン酸リン酸エステル、アスコルビン酸リン酸エステルの脂肪酸エステル、アスコルビン酸グルコシド、及びアスコルビン酸グルコシドの脂肪酸エステルが、安定性が高く、チロシナーゼ活性促進作用に優れる点で好ましい。

**【0041】**

本発明のチロシナーゼ活性促進剤において、上記に示されるようなアスコルビン酸及び／又はアスコルビン酸誘導体は、1種単独で用いてもよく、2種以上を混合して用いてもよい。

**【0042】**

本発明におけるチロシナーゼ活性促進剤の有効成分であるアスコルビン酸及び／又はアスコルビン酸誘導体は、特定濃度で用いることによって、優れたチロシナーゼ活性促進効果を奏する。

**【0043】**

チロシナーゼは、チロシンを基質にして、その水酸化反応と生じたDOPAの酸化反応を触媒するが、水酸化反応時にアスコルビン酸又はアスコルビン酸誘導体が水素供与体として働くことにより、チロシナーゼ活性を促進するものと考えられる。

**【0044】**

そして、該アスコルビン酸及び／又はアスコルビン酸誘導体を含有するチロシナーゼ活性促進剤は、経皮的に吸収されて毛根部位に達し、メラノサイトに働いて、優れたメラニン産生促進作用を示す。

**【0045】**

このような性質により、本発明のアスコルビン酸及び／又はアスコルビン酸誘導体を有効成分とするチロシナーゼ活性促進剤は、優れたメラニン産生促進効果を発揮する。

**【0046】**

本発明のチロシナーゼ活性促進剤は、アスコルビン酸及び／又はアスコルビン酸誘導体を、適宜公知の製法に従って製剤化することにより得ることができる。

**【0047】**

また、本発明の組成物は、本発明のチロシナーゼ活性促進剤を、適宜公知の製法に従って、所望に応じた成分と混合することにより得ることができる。該組成物は、優れたチロシナーゼ活性促進作用又はメラニン産生促進作用を有し、例えば、頭髮用組成物又は皮膚用組成物として利用することができる。また本発明の組成物は、中脳黒質のようなメラニン産生細胞にも働き、パーキンソン病の治療用としても使用することができる。

**【0048】**

本発明の頭髮用組成物は、具体的には、白髪防止用、白髪改善用又は頭髮褐色化用などとして用いることができる。

**【0049】**

本発明の頭髮用組成物の種類は特に限定されず、例えば、シャンプー、リンス、ヘアコンディショナー、ヘアパック、ヘアリキッド、ヘアトニック、ヘアスプレー、発毛剤、染毛剤、養毛剤等として用いることができる。組成物の形態も特に限定されず、例えば、液状、乳液状、クリーム状、ジェル状、固形状等、種々の形態で用いることができる。

**【0050】**

また本発明の皮膚用組成物は、具体的には、皮膚の抗白斑治療用、皮膚褐色化用又は皮膚黒化用などとして用いることができる。

**【0051】**

本発明の皮膚用組成物の種類は、特に限定されず、例えば、ローション、乳液、クレンジングクリーム、栄養クリーム、メイクアップベースクリーム、ファンデーション、ボディローション、ハンドクリーム、レッグクリーム、洗顔料、ボディソープ、ボディシャンプー等として用いることができる。組成物の形態も特に限定されず、ローション状、液状、クリーム状、ジェル状、乳液状、固形状等の形態で用いることができる。

## 【0052】

これら頭髮用及び皮膚用組成物には、チロシナーゼ活性促進剤の効力を高めるのに有効な任意の助剤又は公知の添加剤を適宜配合することができる。例えば、流動パラフィン、ワセリン等の炭化水素類、カルナバワックス、モクロウ等のロウ類、オリーブ油、ホホバ油等の油脂類、オクタデシルパルミテート、ネオペンチルグリコールジイソオクタネート等のエステル類、ステアリン酸、パルミチン酸等の高級脂肪酸類、セチルアルコール、ステアリルアルコール等の高級アルコール類、ノニオン、アニオン、カチオン、両性等の界面活性剤、天然あるいは合成の香料や色素、パラベン類、グルコン酸クロルヘキシジン等の防腐剤、ビタミンE、ビタミンP等のビタミン類、BHT等の抗酸化剤、ベンゾフェノン、アミノ安息香酸等の紫外線吸収剤、エタノール、プロパノール等のアルコール類、クエン酸塩、酢酸塩等のpH調節剤、及び各種目的に応じた薬効成分などを適宜配合することができる。

## 【0053】

本発明のチロシナーゼ活性促進剤の配合量は、チロシナーゼ活性促進剤の使用態様及びに含有成分の種類に応じて適宜調整される。

## 【0054】

例えば、頭髮用組成物として用いる場合には、チロシナーゼ活性促進剤の含有量は、組成物全体に対し、0.00001～10重量%、好ましくは、0.0001～0.1重量%の範囲で配合することが適当である。また皮膚用組成物として用いる場合、チロシナーゼ活性促進剤の含有量は組成物全体に対し、0.00001～10重量%、好ましくは0.0001～0.1重量%の範囲で配合することが適当である。

## 【0055】

チロシナーゼ活性促進剤がアスコルビン酸を有効成分とするチロシナーゼ活性促進剤である場合、本発明の組成物におけるチロシナーゼ活性促進剤の含有量は、組成物全体に対し、0.0001～1重量%、好ましくは0.001～1重量%、より好ましくは0.01～1重量%、更に好ましくは0.1～1重量%で配合するのが適当である。

## 【0056】

チロシナーゼ活性促進剤がアスコルビン酸リン酸エステル及びアスコルビン酸グルコシドからなる群から選ばれる少なくとも1種を有効成分とするチロシナーゼ活性促進剤である場合、本発明の組成物におけるチロシナーゼ活性促進剤の含有量は、組成物全体に対し、0.001～10重量%、好ましくは0.01～10重量%、より好ましくは0.01～1重量%、更に好ましくは0.1～1重量%で配合するのが適当である。

## 【0057】

またチロシナーゼ活性促進剤がアスコルビン酸の脂肪酸エステル、アスコルビン酸リン酸エステルの脂肪酸エステルおよびアスコルビン酸グルコシドの脂肪酸エステルからなる群から選ばれる少なくとも1種を有効成分とするチロシナーゼ活性促進剤である場合、本発明の組成物におけるチロシナーゼ活性促進剤の含有量は、組成物全体に対し、0.00001～0.1重量%、好ましくは0.0001～0.1重量%、より好ましくは0.001～0.1重量%、更に好ましくは0.01～0.1重量%で配合するのが適当である。

## 【0058】

以下、実施例を示し、本発明を具体的に説明するが、本発明はこれらの実施例に限定されるものではない。

## 【実施例1】

## 【0059】

アスコルビン酸及びアスコルビン酸誘導体を被験物質とし、それらのチロシナーゼ活性促進作用について、フェノールを基質にしてプロリン存在下で測定した。

## 【0060】

すなわち、フェノールはチロシナーゼにより水酸化され、このときに水素供与体を必要とする。生成したピロカテコールはチロシナーゼにより酸化されてオルトキノン体を生成

する。このオルトキノンの生成をプロリン存在下で定量することにより、チロシナーゼ活性を測定した。

#### 【0061】

具体的には、次のように測定した。pH7.5の0.1Mリン酸緩衝液に溶解した0.749MのL-プロリン40 $\mu$ l、0.037Mのフェノール40 $\mu$ l及び種々の濃度の被験物質溶液1.41mlを、吸光度用キュベット中で攪拌した。ついで、350 $\mu$ g/mlのチロシナーゼ（マッシュルーム由来、SIGMA）溶液を10 $\mu$ l加え、攪拌下、吸光度の変化を15分間525nmで測定し、チロシナーゼ活性を測定した。

#### 【0062】

チロシナーゼ活性促進率は被験物質未添加時のチロシナーゼ活性に対して、何%阻害或いは促進したかで表した。チロシナーゼ活性促進率100%とはチロシナーゼ活性が被験物質未添加時に比べて2倍になっていることを示す。

#### 【0063】

被験物質として、アスコルビン酸としては、L-アスコルビン酸を用いた。アスコルビン酸誘導体としては、下記構造式で表されるアスコルビン酸-2-グルコシド、アスコルビン酸-2-リン酸エステル及びアスコルビン酸-6-パルミテートを用いた。

#### 【0064】

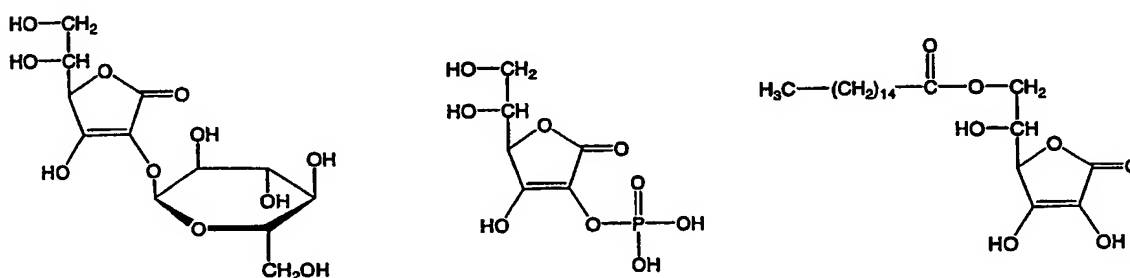
具体的には、以下の物質を用いた。

#### 【0065】

アスコルビン酸：L-アスコルビン酸（和光純薬 番号：016-04805）  
アスコルビン酸グルコシド：アスコルビン酸-2-グルコシド（和光純薬 番号：074-04581）  
アスコルビン酸リン酸エステル：アスコルビン酸リン酸エステルマグネシウム塩（和光純薬 番号：013-12061）  
アスコルビン酸脂肪酸エステル：アスコルビン酸-6-パルミテート（和光純薬 番号：011-13662）

#### 【0066】

#### 【化1】



測定した結果を図1に示す。

#### 【0067】

図1に示されるように、アスコルビン酸は、 $10^{-3}$ M $\sim 10^{-1}$ Mの濃度でチロシナーゼの阻害作用が見られたが、 $10^{-4}$ M以下の濃度において逆にチロシナーゼ活性促進作用が見られた。

#### 【0068】

また、アスコルビン酸脂肪酸エステルであるアスコルビン酸パルミチン酸エステルにおいては、 $10^{-4}$ M以下の濃度でチロシナーゼ活性促進作用が見られた。

#### 【0069】

また、アスコルビン酸リン酸エステル、アスコルビン酸グルコシドでは $10^{-2}$ M $\sim 10^{-4}$ Mの濃度でチロシナーゼ活性促進作用が見られた。

#### 【0070】

アスコルビン酸は皮膚からはほとんど吸収されないため、細胞内の濃度を $10^{-4}$ M又は

それ以下の濃度とする場合、アスコルビン酸を有効成分とするチロシナーゼ活性促進剤の組成物全体における濃度は、0.0001～1重量%程度となる。

【0071】

アスコルビン酸リン酸エステルやグルコシド体は、アスコルビン酸よりも安定性が高く、アスコルビン酸に比べて皮膚透過性乃至吸収性が増しているため、細胞内の濃度を活性化作用が見られる $10^{-2}\text{M}$ ～ $10^{-4}\text{M}$ 程度とする場合、アスコルビン酸リン酸エステルやグルコシド体を有効成分とするチロシナーゼ活性促進剤の組成物全体における濃度は、0.001～10重量%程度となる。

【0072】

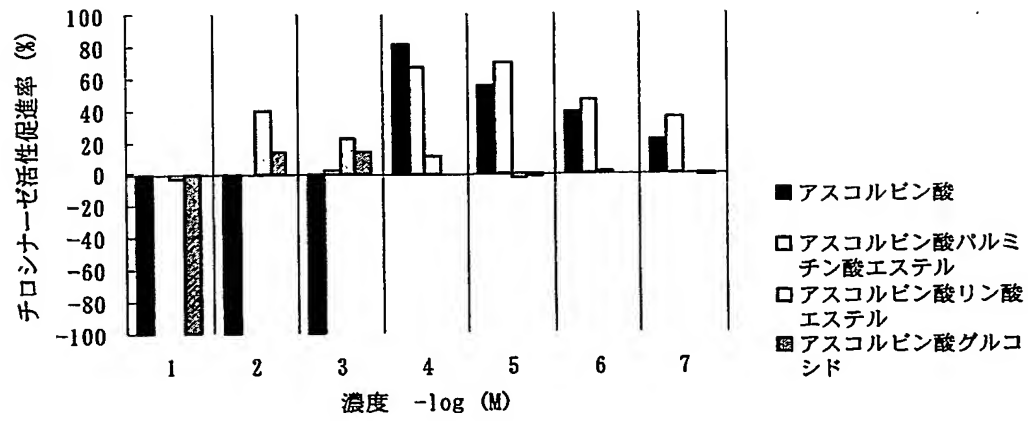
アスコルビン酸又はアスコルビン酸誘導体の脂肪酸エステルは、安定性が高く、皮膚透過性はかなり高くなっていると考えられる。このため、細胞内の濃度を $10^{-4}\text{M}$ 以下程度とする場合、アスコルビン酸又はアスコルビン酸誘導体の脂肪酸エステルを有効成分とするチロシナーゼ活性促進剤の組成物全体における濃度は、0.00001～0.1重量%程度となる。

【図面の簡単な説明】

【0073】

【図1】アスコルビン酸及びアスコルビン酸誘導体のチロシナーゼ活性促進率を調べた結果を示した図面である。

【書類名】 図面  
【図 1】



【書類名】要約書

【要約】

【課題】安全性が高く、簡便に利用でき、かつ優れたチロシナーゼ活性促進作用を有するチロシナーゼ活性促進剤及び組成物を提供すること。

【解決手段】アスコルビン酸及び／又はアスコルビン酸誘導体を有効成分とするチロシナーゼ活性促進剤。並びに該チロシナーゼ活性促進剤を含有する組成物。

【選択図】図 1

特願 2 0 0 3 - 2 9 4 5 4 3

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[ 3 0 1 0 2 1 5 3 3 ]

1. 変更年月日  
[変更理由]

2 0 0 1 年 4 月 2 日

新規登録

住 所  
氏 名

東京都千代田区霞が関 1 - 3 - 1  
独立行政法人産業技術総合研究所

特願 2 0 0 3 - 2 9 4 5 4 3

出 願 人 履 歷 情 報

識別番号

[ 0 0 0 0 0 3 1 6 0 ]

1. 変更年月日

1 9 9 0 年 8 月 1 0 日

[変更理由]

新規登録

住 所

大阪府大阪市北区堂島浜 2 丁目 2 番 8 号

氏 名

東洋紡績株式会社



特願 2 0 0 3 - 2 9 4 5 4 3

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[ 3 9 1 0 4 5 3 9 2 ]

1. 変更年月日

1 9 9 1 年 6 月 2 0 日

[変更理由]

新規登録

住 所

大阪府高槻市中川町 5 番 2 1 号

氏 名

甲南化工株式会社